Aus der Medizinischen Universitätsklinik Würzburg
Direktor: Prof. Dr. H.A. Kühn

PLASMA - RENIN - AKTIVITÄT IM ARTERIELLEN UND PORTALVENÖSEN BLUT DER RATTE BEI EXPERIMENTELLER PORTALER HYPERTENSION

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Alfred Iberer
aus Frankfurt

Würzburg, den 2. November 1979

1980

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Würzburg
Direktor: Prof. Dr. H.A. Kühn

PLASMA - RENIN - AKTIVITÄT IM ARTERIELLEN UND PORTALVENÖSEN BLUT DER RATTE BEI EXPERIMENTELLER PORTALER HYPERTENSION

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Alfred Iberer
aus Frankfurt

Würzburg, den 2. November 1979

Referent:	Prof. Dr. Wernze
Korreferent:	Prof. Dr. H.A. Kühn
Dekan:	Prof. Dr. K.-H. Wulf

Tag der mündlichen Prüfung: 8.2.1980

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität Würzburg

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
I.	EINLEITUNG	1
II.	METHODIK	3
	1. Tiermaterial	3
	2. Radio - immunologische Bestimmungsmethode	3
	3. Ermittlung optimaler Reaktionsbedingungen	7
	a) Bestimmung des pH - Optimums	7
	b) Bestimmung der Zeitumsatzkurven	7
	c) Überprüfung der Konstanz des pH - Wertes während der Inkubation bei 37°C	7
	d) Einfluß von Narkotika auf den Reninspiegel	10
	e) Zusammenfassung der methodischen Ergebnisse zum Reninnachweis im Rattenplasma	12
	4. Erzeugung der portalen Hypertension	12
	5. Gruppierung des Tiermaterials und Plasmagewinnung	13
III.	ERGEBNISSE	14
IV.	DISKUSSION	20
V.	ZUSAMMENFASSUNG	23
VI.	LITERATURVERZEICHNIS	24

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543521_0015

I. EINLEITUNG

Lebercirrhosen entwickeln mit fortschreitender Erkrankung einen portalen Hochdruck. Die portale Hypertension wird in erster Linie durch mechanische Widerstandsveränderungen als Folge des Strukturumbaus im Bereich der intrahepatischen Pfortaderäste hervorgerufen.

Es ist bekannt, daß der Pfortaderdruck keine konstante Größe darstellt. TAYLOR et al. (1954), LEEVY et al. (1958) und LIEBOWITZ (1961) konnten mittels fortlaufender Druckmessung nachweisen, daß Gesunde und Cirrhosekranke mit portaler Hypertension bei verschiedenen Belastungen, wie Aufstehen, Husten oder sonstige Verstärkung der Bauchpresse, annähernd gleiche Reaktionen aufweisen.

Inwieweit neben den mehr mechanischen Veränderungen zusätzlich neurale oder humorale Faktoren eine Rolle spielen, ist relativ wenig untersucht. Über eine Beteiligung des Renin - Angiotensin - Systems an der Entwicklung und Aufrechterhaltung des portalen Hochdrucks ergeben sich auf Grund der bisher vorliegenden Befunde keine klaren Vorstellungen:

BARNARDO et al. (1969) fanden bei Menschen mit unterschiedlichen abdominellen Erkrankungen erhöhte Reninwerte im portalvenösen Blut verglichen mit dem gleichzeitig bestimmten peripher-venösen Blut. Die Autoren vermuteten deshalb, daß im Ursprungsgebiet der vena portae, also extrarenal, Renin freigesetzt wird. Zu dem gleichen Ergebnis kamen GANTEN et al. (1970), die bei nephrektomierten Hunden nach induzierter Hypotension ebenfalls erhöhte Reninspiegel in der Pfortader gegenüber dem Spiegel in der Körperperipherie fanden.

Im Gegensatz hierzu stehen Befunde von HAECOX et al. (1967) und JOHNSON et al. (1971), die unter den selben Bedingungen an der gleichen Tiergattung keine peripher-portalvenösen Reninanktivitätsdifferenzen finden konnten.

Nach Untersuchungen von HORKY et al. (1970), SIEMENSEN (1970)

und WERNZE und SEKI (1972) scheint bei Ratten eine Freisetzung von Renin im Splanchnicusgebiet nicht zu existieren.

Ob unter den Bedingungen der experimentellen portalen Hypertension bei dieser Spezies aber Konzentrationsdifferenzen des Plasmarenins auftreten, ist bislang unbekannt.

Aufgabe der eigenen Untersuchungen sollte es deshalb sein, das Verhalten der Renin - Aktivität im portalvenösen und arteriellen Blut unter den Bedingungen des protrahierten Pfortaderverschlusses zu untersuchen.

Blutentnahmen an kleinen Versuchstieren können praktisch nur unter Narkosebedingungen durchgeführt werden, sofern nicht Tiere verwendet werden, denen vorher Dauerkatheter implantiert worden sind. Nun werden aber gerade durch die Narkose eine ganze Reihe biologischer Systeme aktiviert (OYAMA 1973). Inwieweit dies nun auch für das Renin - Angiotensin - System zutrifft, mußte zunächst überprüft und danach das am wenigsten aktivierende Narkotikum ausgewählt werden.

Da die radioimmunologische Bestimmungsmethode für Renin im Vergleich zu den bisher verwendeten Verfahren eine höhere Empfindlichkeit besitzt und mit einem geringeren Arbeitsaufwand verbunden ist (BOYD et al. 1969), sollte die Verwendbarkeit des Radioimmunoassay für Rattenplasma überprüft und die optimalen Reaktionsbedingungen ermittelt werden, zumal zu Beginn der eigenen Untersuchungen darüber keine Angaben in der Literatur vorlagen.

II. METHODIK

1. Tiermaterial

Die Versuche wurden an Sprague - Dawley - Ratten mit einem Gewicht zwischen 250 g und 320 g durchgeführt. Zu den methodischen Voruntersuchungen zur Reninanalytik wurden männliche und weibliche Tiere herangezogen. Dagegen fanden im Hauptversuch ausschließlich männliche Ratten Verwendung. Alle Tiere hatten ungehinderten Zugang zu Altromin - Standardfutter und Leitungswasser. Sie wurden in Macrolonkäfigen in einem gleichmäßig temperierten Raum mit konstanter Hell - Dunkelrhythmik gehalten.

2. Renin - Nachweis mittels Radioimmunoassay

Zur Durchführung des Radioimmunoassays bedienten wir uns des von CEA - IRE - SORIN angebotenen Reninbesteckes, das J - 125 - markiertes Ileu - 5 - Angiotensin - I, Angiotensin - I - Standard sowie Antikörper gegen Ileu - 5 - Angiotensin - I in gefriergetrocknetem Zustand und Dextranaktivkohle und Puffer in Substanz enthält. Die wesentlichen Schritte dieses Verfahrens gehen auf die von HABER (1969) entwickelte Methode zurück:

1. Inkubation von Plasmaproben bei 37°C zur Freisetzung von Angiotensin - I bei gleichzeitiger Blockierung der Plasmaangiotensinasen.
2. 24-stündige Inkubation der Plasmaproben mit markiertem Angiotensin - I und Antiserum bei 2 - 4°C.
3. Extraktion des nicht an den Antikörper gebundenen Angiotensin - I durch Bindung an Dextranaktivkohle.
4. Zentrifugation der Proben und Bestimmung der an Antikörper gebundenen Radioaktivität des Überstandes in einem Gamma - Zähler.

5. Ermittlung der unbekannten Angiotensin - I - Konzentration der Proben durch Vergleich mit Standard - Angiotensin - I in einem definierten Konzentrationsbereich.

Da bei diesem Verfahren die effektive Plasmareninaktivität in vitro bestimmt wird, müssen alle Arbeitsschritte des Bestimmungsverfahrens mit Ausnahme der Inkubation zur Angiotensin - I - Freisetzung im Eisbad vorgenommen werden. Nach PICKENS et al. (1965), BOUCHER et al. (1964, 1967), HELMER und JUDSON (1963), KLAUS und HEIZMANN (1968) und RÖSSLER et al. (1971) ist bei höheren Temperaturen mit einem unkontrollierten Substratverbrauch zu rechnen.

Das frisch gewonnene Blut wurde deshalb sofort in eisgekühlte Plastikgläschen gefüllt, die vorher mit 1 mg EDTA /1ml Vollblut beschickt worden waren. Anschließend wurde das Vollblut in einer Kühlzentrifuge (4 000 U/min.) für 10 Minuten zentrifugiert und das Plasma sorgfältig abpipettiert und dieses unmittelbar danach bei -20°C tiefgefroren, falls keine sofortige Weiterverarbeitung erfolgen konnte.

Zur Vermeidung einer Reaktion von Renin mit seinem endogenen Substrat Angiotensinogen, die auch bereits im niedrigeren Temperaturbereich abläuft, ist dieses Vorgehen ebenso unerläßlich wie das vorsichtige Wiederauftauen der tiefgefrorenen Chargen unmittelbar vor der eigentlichen Reninbestimmung zu einem späteren Zeitpunkt.

Bestimmungsansatz:

1 ml Plasma wird mit 20 µl einer 0.34 molaren 8 - Hydroxy - Chinolinlösung und 6 µl einer 0.8 molaren Dimercaprol - Lösung unter Verwendung einer Hamilton - Spritze beschickt. Die pH - Einstellung auf verschiedene pH - Werte erfolgte unter Zugabe von 0.1 n HCl an einem pH - Meter mit Mikro - Glaselektrode (Fa. Pusl, München). Nach jedem Reagenzienzusatz wurde das Inkubat auf einem Vortexmischer kurz durchmischt.

Nach dieser Vorbehandlung wurden die Plasmaproben in zwei gleich große Chargen aufgeteilt. Der eine Teil wurde für 30 min. bei 37°C inkubiert, der andere bis zur Weiterverarbeitung im Eisbad aufbewahrt.

Sowohl für die Plasmainkubat - Verdünnungen als auch für das Puffermedium in der Immunoreaktion wurde ein auf pH 7,4 eingestellter, 0.1 n Trisacetatpuffer mit Lysozymzusatz (1 mg Lysozym /1ml Trisacetatpufferlösung) verwendet. In der Regel wurde mit Plasmaverdünnungen von 1 : 6 und 1 : 16 gearbeitet. Hierzu wurden am Ende der Inkubation mit der Biopette 0,1 ml Plasma entnommen und in 0,5 ml bzw. 1,5 ml des eisgekühlten Puffers gegeben und das Ganze sorgfältig durchmischt.

Für jeden Leerwert und jede Verdünnung wurden je 3 Gläschen mit 0,45 ml eisgekühltem Puffer vorbereitet (Dreifachbestimmung!). Der Puffer wurde dabei mit einer halbautomatisch arbeitenden Citopipette abgefüllt. In diese Gläschen wurden nun nacheinander mit einer Biopipette 0,025 ml des zu bestimmenden Plasmas (verdünntes oder unverdünntes Inkubat oder Leerwert), 0,025 ml der Angiotensin - I - Antikörperlösung und 0,025 ml der J - 125 - markierten Angiotensin - I - Lösung zugegeben. Nach der Mischung auf dem Vortexmischer wurde das Inkubat für 24 h im Eisschrank (2°C) gehalten.

Nach dem Ablauf der Immunoreaktion wurde das nicht an den Antikörper gebundene Angiotensin - 1 mit einer Dextran - Aktivkohlesuspension extrahiert. Hierzu wurden pro Gläschen 0,25 ml Suspension zugegeben, sorgfältig durchmischt, in der Kühlzentrifuge bei 4 000 U/min. für 10 min. abzentrifugiert und der Überstand in Plastikgläschen dekantiert. Die Aktivität des Überstandes wurde dann in einem Gamma - Zähler (Gammaszint, B. Frieseke) gemessen.

Zur Gewinnung einer Angiotensin - I - Standardkurve wurden statt der Plasmaproben Verdünnungen einer definierten Stammlösung von Angiotensin - I bestimmt, und zwar Konzentratio-

nen einer geometrischen Verdünnungsreihe zwischen 0,8 ng/ml und 0,026 ng/ml.

Berechnungsbeispiel:

Gegeben: Standardkurve (Abszisse: ng AT - I/ml, Ordinate: Impulse/min., beide Maßstäbe linear)

Impulszahlen der nichtinkubierten Proben (= Leerwerte) a_1, a_2, a_3

Impulszahlen der inkubierten Plasmaproben b_1, b_2, b_3

V_1 = Verdünnungsfaktor des nichtinkubierten Plasmas

V_2 = Verdünnungsfaktor des inkubierten Plasmas

V_0 = Volumenfaktor = 20

Gesucht: Menge des während der Inkubation freigesetzten Angiotensin - I/ml Plasma

a) $\frac{a_1 + a_2 + a_3}{3} = a_m$

Durch die Standardkurve ist der mittleren Impulszahl a_m eine Angiotensin - I - Konzentration c_0 zugeordnet. Es gilt dann folgender Zusammenhang:
Antiotensin - I - Konzentration des nichtinkubierten Plasma = Leerwert = c_0 mal V_1 mal V_0

b) $\frac{b_1 + b_2 + b_3}{3} = b_m$

Der mittleren Impulszahl b_m ist durch die Standardkurve eine Angiotensin - I - Konzentration c_1 zugeordnet. Somit ergibt sich:
Angiotensin - I - Konzentration des inkubierten Plasma = c_1 mal V_2 mal V_0.

c) Die während der Wärmeinkubation freigesetzte Angiotensin - I - Menge/ml ergibt sich somit aus

Antiotensin - I - Konzentration des inkubierten Plasmas minus Leerwertkonzentration =
c_1 mal V_2 mal V_0 - c_0 mal V_1 mal V_0.

3. Ermittlung optimaler Reaktionsbedingungen für die Reninbestimmung (PRA) im Rattenplasma

a) Bestimmung des pH - Optimums

Von 6 weiblichen Ratten wurden 2 mal 2 Plasmen gepoolt und die 2 anderen Plasmen einzeln bestimmt. Pools und Einzelplasmen wurden in mehrere Chargen zu je 0,5 ml aufgeteilt und bei verschiedenem pH bei 37°C für 30 min. inkubiert.

Wie aus der Abb. 1 zu entnehmen ist, liegen mit einer Ausnahme alle pH - Optima bei pH 6.5. Dieser Befund wurde durch inzwischen publizierte Untersuchungen von MENARD und CATT (1972) bestätigt. Nach BOUCHER et al. (1967) gilt dies auch für die biologische Bestimmungsmethode von Renin im Rattenplasma.

b) Bestimmung der Zeitumsatzkurven

Die Zeitumsatzkurven wurden mit Plasmen von 5 männlichen Tieren bei einem pH von 6.5 mit Inkubationszeiten von 15, 30, 45 und 60 min. ermittelt.

Wie aus der Abb. 2 zu ersehen ist, konnte bei allen Proben eine Linearität bis 45 min. nachgewiesen werden. Nur in einem Fall entsprach auch der 60 min.- Wert der von einer Linearität zu fordernden Höhe.

c) Überprüfung der Konstanz des pH - Wertes während der Inkubation bei 37°C

Dazu wurden 5 Plasmen exakt auf pH 6.5 $\pm$ 0.02 eingestellt und nach 30 - min. Inkubation erneut auf ihren pH - Wert überprüft.

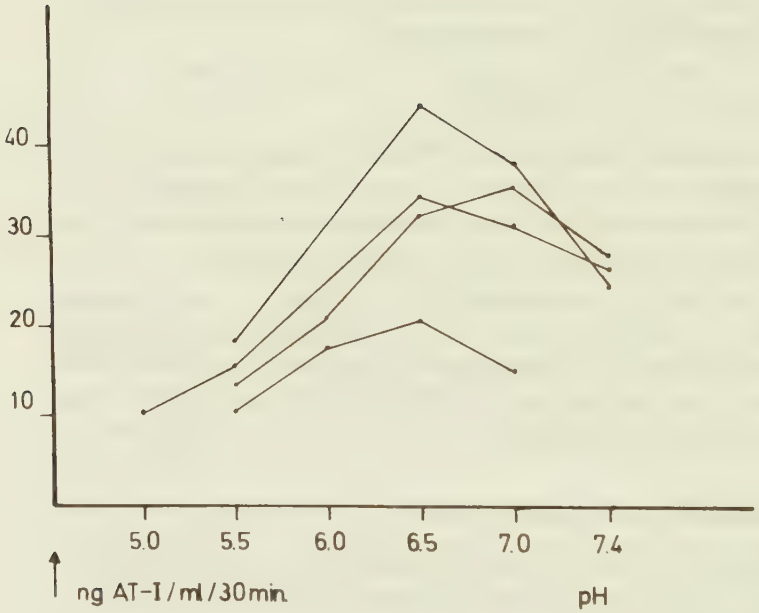

Abb.1: Abhängigkeit der Renin - Reninsubstratreaktion (Inkubationsdauer 30 min.) bei 37°C von der H^+ - Ionenkonzentration des Inkubationsgemisches, dargestellt an Hand von 4 Einzelversuchen

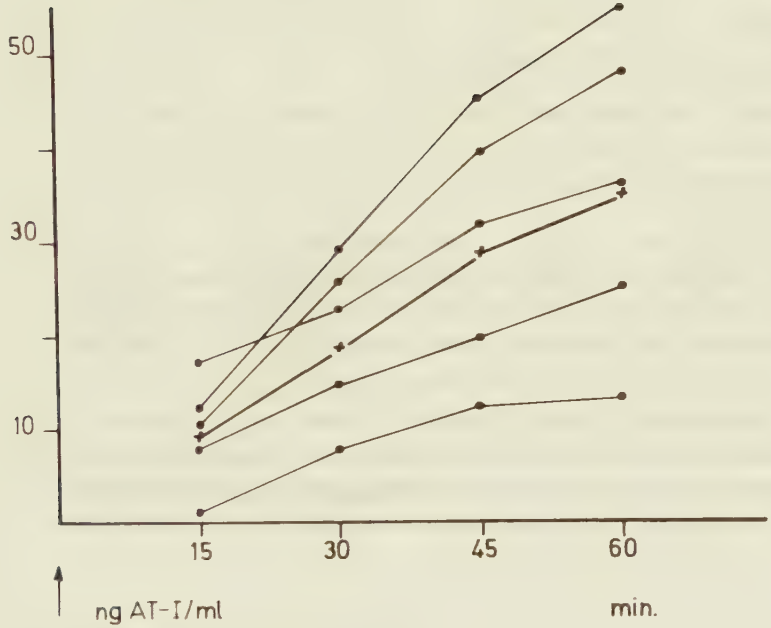

Abb.2: Abhängigkeit der freigesetzten Angiotensin - I - Menge von der Inkubationsdauer bei 37°C und einem pH von 6.5

Hierbei wurden folgende Befunde ermittelt:

Plasma 1 von 6.51 auf 6.78		Diff.: + 0.27
Plasma 2 von 6.50 auf 6.85		Diff.: + 0.35
Plasma 3 von 6.49 auf 6.74		Diff.: + 0.25
Plasma 4 von 6.48 auf 6.76		Diff.: + 0.28
Plasma 5 von 6.50 auf 6.90		Diff.: + 0.4
Mittelwerte: 6.49	6.80	0.31

Wie obiger Aufstellung zu entnehmen ist, sind sämtliche Proben während der Wärmeinkubation alkalischer geworden. Es fand sich dabei im Durchschnitt ein Anstieg von 0.31 pH - Einheiten. Als Ursache hierfür dürfte hier in erster Linie das Entweichen von CO_2 in Frage kommen.

Im Widerspruch hierzu stehen die Ergebnisse von KLAUS und HEIZMANN (1968), die bei der Arbeit mit Human - Plasma im Rahmen der biologischen Bestimmungsmethode nach PICKENS (1965) in den überwiegenden Fällen eine pH - Änderung um - 0.2 Einheiten fanden.

d) Einfluß verschiedener Narkotika auf den Reninspiegel

Es wurden 14 Rattenmännchen mit Nembutal(0,05 ml / 100 mg), 4 Tiere mit Urethan (0,5 ml 50 % /100 g) und 5 Tiere mit Aether narkotisiert. Die Ratten wurden jeweils nach vollständiger Relaxation laparatomiert und mit einer 10 ml - Plastikspritze und 1 - er Kanüle aus der Aorta abdominalis entblutet. Die hierbei bestimmten Einzelwerte sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Die Gruppenmittelwerte (M $\pm$ S.E.M.) der Plasma - Reninaktivität (PRA) differierten wie folgt:

Aethernarkose:	97.2 $\pm$ 12.37 ng / ml / 30 min.
Urethannarkose:	124.32 $\pm$ 3.28 ng / ml / 30 min.

Nembutalnarkose: 20.75 ± 3.51 ng / ml / 30 min.

Danach kann angenommen werden, daß Nembutal die Reninsekretion am wenigsten stimuliert.

Nembutal:				Urethan:		Aether:	
	PRA		PRA		PRA		PRA
Nr. 1	5.8	Nr. 8	26.08	Nr. 15	132.9	Nr. 19	107.8
2	9.9	9	26.62	16	125.72	20	116.16
3	10.9	10	33.48	17	124.36	21	61.4
4	12.4	11	34.2	18	114.32	22	74.95
5	9.78	12	23.88			23	125.72
6	13.34	13	24.78				
7	7.54	14	51.55				

Tab.1: Einzelwerte der PRA unter verschiedenen Narkotikabedingungen bei 23 männlichen Versuchsratten (angegeben ist die Angiotensin - I - Menge in ng / ml / 30 min.)

Nach BARRETT und STOCKHAM (1963) erhöht sich unter Aethernarkose der ACTH - Spiegel. Desgleichen scheint Urethan eine sekretionssteigernde Wirkung auf die Hypophyse zu haben, wie SPRIGGS und STOCKHAM (1964) zeigen konnten. HERMANSKY et al. (1955) waren früher schon zu ähnlichen Ergebnissen gekommen. VANDEN (1965), WATHEN et al. (1965) und UEDA et al. (1970) konnten am Hund zeigen, daß Catecholamine die Reninsekretion zu steigern vermögen.

Es ist deshalb als gesichert anzusehen, daß sowohl Urethan als auch Aether, sei es nun über das ACTH der Hypophyse oder durch einen direkten Effekt am Nebennierenmark selbst, Catecholamine freisetzen, die ihrerseits das Renin - Aniotensin -

System aktivieren. Wie Untersuchungen von STEIN (1976) zeigten, liegt aber auch für Nembutal eine Stimulation vor, wenn die PRA - Werte mit denen von decapitierten Tieren verglichen werden.

e) Zusammenfassung der methodischen Ergebnisse zum Renin - Nachweis im Rattenplasma

1. Die radio - immunologische Bestimmungsmethode ist auch für den Nachweis der Renin - Aktivität im Rattenplasma geeignet.
2. Das pH - Optimum der Renin - Reninsubstrat - Reaktion im Rattenplasma liegt bei pH 6.5.
3. Eine Reaktion Nullter Ordnung liegt bei der Reninbestimmung mit endogenem Substrat allerdings nur bis zu einer Inkubationsdauer von 45 min. vor.
4. Verglichen mit Urethan und Aether, ist Nembutal das Narkotikum, das die Reninaktivität am wenigsten beeinflußt.

4. Erzeugung der portalen Hypertension an der Ratte

BERMANN et al. (1956) arbeiteten zur Erforschung des Coronarkreislaufes mit Gefäßkonstriktoren aus Quellstoff, die eine kontinuierliche Einengung und schließlich vollständigen Verschluß der Coronararterien erlauben. Ausgehend von diesen Untersuchungen entwickelten LIEHR et al. (1971) ein Verfahren, das einen protrahierten Verschluß der v. portae an der Ratte ermöglicht. Die in dieser Arbeit verwendeten Tiere entstammen einem größeren Kollektiv, das nach dem nachstehend beschriebenen Verfahren operiert wurde:

Die Tiere werden in Aethernarkose laparatomiert, die Leberpforte dargestellt und nach Fensterung des lig. hepatoduodenale ein in einen Stahlmantel gefaßter Ameroidring um den Pfortaderstamm gelegt. Durch kontinuierliche Flüssigkeits-

aufnahme verkleinert sich der Innendurchmesser des Ringes in dem Maße, daß am 6. Tag nach der Operation die Okklusion der Pfortader vollständig ist (LIEHR et al. 1971, 1972).

Bei den Kontrolltieren wurde lediglich eine Probelaparatomie in Aethernarkose vorgenommen.

5. Gruppierung des Tiermaterials und Plasmagewinnung

Tage post operationem	Anzahl der Tiere mit Quellring	Anzahl der scheinoperierten Tiere
3	5	5
6	4	-
9	3	-
14	12	6
21	6	5

Tab.3: Anzahl der jeweils nach 3, 6, 9, 14 und 21 Tagen getöteten ring- und scheinoperierten Tiere

Zur Blutentnahme wurden die Tiere entsprechend den Ergebnissen aus den Vorversuchen mit Nembutal narkotisiert und das Abdomen entlang der alten Operationsnarbe eröffnet. Nach Darstellung von Aorta abdominalis und Vena portae wurden beide Gefäße mit je einer 2 ml Einmalspritze mit 1 - er Kanüle punktiert und streng synchron je 2 ml Blut entnommen, das dann wie unter dem Abschnitt "Methodik" bereits beschrieben weiter verarbeitet wurde.

III. ERGEBNISSE

3 Tage nach Anlegen des Ameroidringes liegen die Mittelwerte der PRA sowohl arteriell mit 46.95 $\pm$ 10.26 ng / ml / 30 min. als auch portal mit 40.21 $\pm$ 10.65 ng / ml / 30 min. höher als die entsprechenden Werte bei den scheinoperierten Tieren: arteriell 36.47 $\pm$ 12.82 ng / ml /30 min., portalvenös 31.27 $\pm$ 12.02 ng / ml (30 min.. Mit $p > 0.10$ (art.) und $p > 0.15$ (port.) sind diese Unterschiede allerdings nicht signifikant.

Hingegen ist der PRA - Spiegel im arteriellen Blut sowohl der probelaparatomierten Tiere ($p < 0.0001$) als auch der Ringtiere ($p < 0.0005$) gegenüber einem unbehandelten, in Nembutalnarkose entbluteten Kollektiv signifikant erhöht.

6 Tage nach der Operation sind die Mittelwerte der PRA bei den Ringtieren arteriell auf 49.4 $\pm$ 5.91 ng / ml / 30 min. und portalvenös auf 56.36 $\pm$ 6.9 angestiegen. Dieser Anstieg ist mit $p > 0.3$ (art.) nicht, im anderen Fall mit $p < 0.025$ (port.) signifikant.

9 Tage nach der Operation erreichten sowohl die portalvenösen PRA - Werte mit 77.0 $\pm$ 26.0 ng / ml / 30 min. bzw. 77.3 $\pm$ 13.85 ng / ml / 30 min. bei den Ringtieren ihre Maximalwerte. Der Unterschied zu den 6 - Tage - Tieren ist dabei in beiden Gefäßprovinzen signifikant (art.: $p < 0.05$, port.: $p < 0.025$).

14 Tage nach der Operation war bei den Ringtieren mit 31.45 $\pm$ 4.74 ng / ml / 30 min. arteriell und 29.77 $\pm$ 3.5 ng / ml / 30 min. portalvenös ein Abfall erkennbar. Zwar liegt der arterielle Wert noch signifikant ($p < 0.005$) höher als bei unbehandelten Tieren in Nembutalnarkose, verglichen mit den Ringtieren 3 Tage p. o. liegt das PRA - Niveau allerdings deutlich niedriger ($p < 0.005$). Bemerkenswerterweise sind die arteriellen Werte der scheinoperierten Tiere mit 41.25 $\pm$ 5.84 ng / ml / 30 min. mit $p < 0.0025$ signifikant höher, ebenso die portalvenösen Werte mit 37.23 $\pm$ 7.49 ng / ml / 30 min. bei $p < 0.001$.

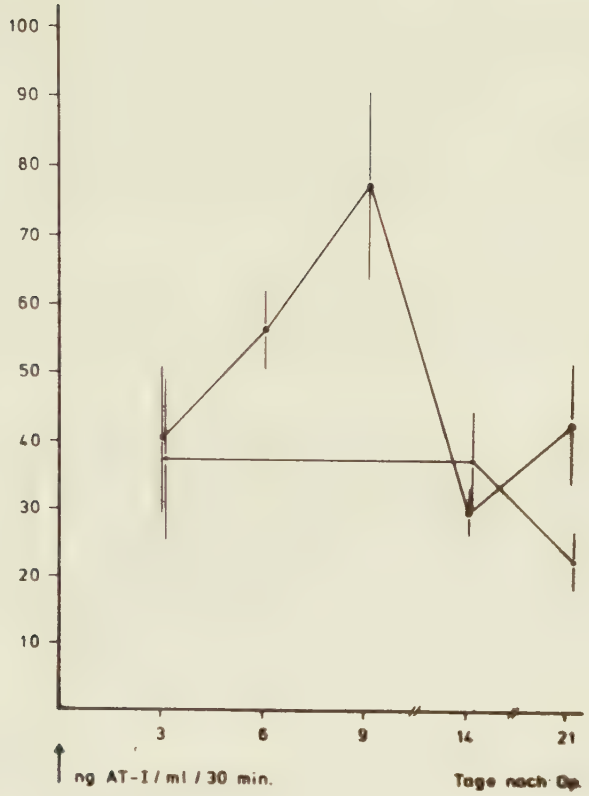

Abb.3: Arterielle Reninaktivitäten der Ring-(-o-) und scheinoperierten Tiere

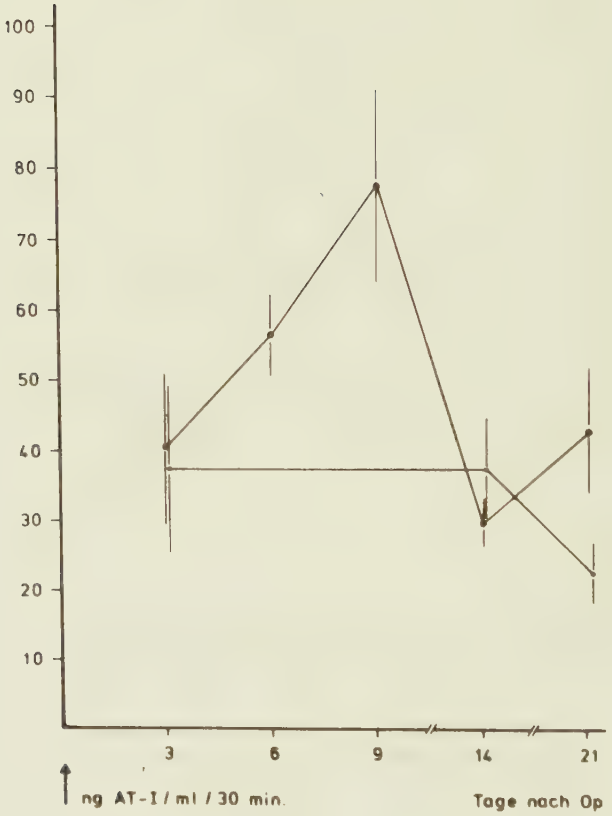

Abb.4: Portale Reninaktivitäten der Ring- (-o-) und scheinoperierten Tiere

21 Tage nach der Operation sind die Mittelwerte der PRA bei den Ringtieren leicht erhöht: 40.82 $\pm$ 8.42 ng / ml / 30 min. arteriell und 42.57 $\pm$ 8.80 ng / ml / 30 min. portalvenös. Die PRA der probelaparatomierten Tiere lag demgegenüber mit 23.57 $\pm$ 12.84 ng / ml / 30 min. arteriell und 22.47 $\pm$ 4.27 ng / ml / 30 min. portalvenös deutlich niedriger ($p < 0.05$ arteriell und $p < 0.0025$ portal). Mit $p > 0.15$ unterschieden sich die arteriellen Werte zu diesem Zeitpunkt nicht mehr signifikant von den unbehandelten Tieren.

Tab.4: Arterielle und portale Reninaktivitäten der Ring- und probelaparatomierten Tiere mit Angabe der portoarteriellen Aktivitätsdifferenzen

A = arterielle Reninaktivität
P = portale Reninaktivität
D = portoarterielle Reninaktivitätsdifferenz
$\bar{x}$ = arithmetisches Mittel der Einzelwerte
$s_{\bar{x}}$ = mittlerer Fehler des Mittelwertes

Die in Klammer gesetzten Werte wurden in der Statistik nicht berücksichtigt, da eine artefizielle PRA-Erhöhung (Nembutalüberdosierung mit respiratorischer Insuffizienz!) nicht auszuschließen war.

3 Tage nach der Operation

Ringtiere					scheinoperierte Tiere				
Nr.	A	P		D	Nr.	A	P		D
101	18.8	23.8	+	5.0	119	28.1	23.6	-	4.5
102	46.7	21.25	-	25.45	120	10.3	13.76	+	2.46
103	55.3	50.6	-	4.7	(127	133.16	144.0	+	10.84
(105	125.4	134.2	+	8.8	129	71.4	68.2	-	3.2
125	67.0	65.2	-	1.8	131	36.9	43.52	+	6.42
$\bar{x}$	46.95	40.21			$\bar{x}$	36.67	31.27		
$s_{\bar{x}}$	10.26	10.65			$s_{\bar{x}}$	12.82	12.02		

6 Tage nach der Operation

Ringtiere

Nr.	A	P	D
262	50.5	42.4	- 8.1
265	33.7	52.5	+ 18.8
257	62.4	70.24	+ 7.84
263	51.0	60.32	+ 9.32
$\bar{x}$	49.4	56.36	
$s_{\bar{x}}$	5.91	5.90	

9 Tage nach der Operation

Ringtiere

Nr.	A	P	D
251	116.0	104.0	- 12.0
254	27.5	57.5	+ 30.0
260	87.5	70.4	- 17.1
$\bar{x}$	77.0	77.3	
$s_{\bar{x}}$	26.0	13.85	

14 Tage nach der Operation

Ringtiere

Nr.	A	P	D
27	27.0	27.0	$\pm$ 0
28	32.0	34.0	- 2.0
29	32.8	29.9	- 2.9
25	32.2	33.5	- 1.3
26	26.7	29.7	+ 3.0
30	37.2	34.8	- 2.4
106	33.0	25.5	- 7.5
107	32.75	32.26	- 0.49
108	77.4	61.25	- 16.15
109	13.0	14.0	+ 1.0
110	16.9	16.0	- 0.9
126	16.5	19.4	+ 2.9
$\bar{x}$	31.45	29.77	
$s_{\bar{x}}$	4.74	3.50	

scheinoperierte Tiere

Nr.	A	P	D
35	39.4	19.3	- 20.1
128	(87.4	7.0	- 80.4)
130	52.8	52.8	$\pm$ 0
132	24.5	23.36	- 1.14
134	56.2	56.2	$\pm$ 0
135	34.7	34.5	- 0.2
$\bar{x}$	41.52	37.23	
$s_{\bar{x}}$	5.84	7.49	

21 Tage nach der Operation

Ringtiere					scheinoperierte Tiere				
Nr.	A	P		D	Nr.	A	P		D
111	29.75	31.5	+	1.75	113	11.48	18.98	+	7.5
118	8.8	6.68	-	2.12	(114	4.8	26.16	+	21.36)
121	54.02	49.75	-	4.27	115	62.12	33.78	-	28.34
123	45.86	64.84	+	18.98	116	12.46	23.49	+	11.03
124	68.64	61.68	-	6.96	117	8.63	13.64	+	5.01
280	37.9	41.0	+	3.1	$\bar{x}$	23.67	22.47		
$\bar{x}$	40.82	42.57			$s_{\bar{x}}$	12.84	4.27		
$s_{\bar{x}}$	8.42	8.80							

Zusammenfassend lassen sich aus den beobachteten Ergebnissen folgende Feststellungen treffen:

1. Die Reninschwankungen während des 21-tägigen Beobachtungszeitraums verlaufen arteriell und portal weitgehend parallel. Zumindest konnte eine einheitliche Tendenz der Renindifferenzen zu keinem Zeitpunkt nachgewiesen werden.

2. Normale Reninwerte werden im beobachteten Zeitraum nie mehr erreicht. Sie befinden sich durchwegs auf einem höheren Niveau.

3. Ein Aktivitätsmaximum findet sich in beiden Gefäßprovinzen am 9. Tag nach der Operation. Zur selben Zeit finden sich die größten Schwankungen der Einzelwerte.

4. Nach einem Tief am 14. Tag steigen die Werte bis zum 21. Tag erneut signifikant an.

5. Auch bei den probelaparatomierten Tieren laufen die arteriellen und portalen Reninaktivitäten nahezu parallel. Die arteriellen Werte sind sowohl am 3. als auch am 14. Tag nach der Operation gegenüber einem Normkollektiv signifikant erhöht. Erst am 21. Tag ist das Niveau unbehandelter Tiere wieder erreicht.

IV. DISKUSSION

Am Zustandekommen der portalen Hypertension Cirrhosekranker sind in erster Linie mechanische Faktoren beteiligt. Ob humorale Wirkstoffe oder neurale Mechanismen für den Gefäßwiderstand im Pfortaderstromgebiet eine zusätzliche Bedeutung haben, ist ungeklärt.

Für eine Reihe von Substanzen konnte bereits eine Gefäßwirkung im Pfortadersystem nachgewiesen werden. So zeigte MAPPES (1965) am Kaninchen, daß einmalige Noradrenalininjektion den Pfortaderdruck ansteigen läßt, während Vasopressin zu einer Druckminderung führt. Beim Menschen scheinen die Catecholamine nach JOLY et al. (1967) und SIEGEL und HARRISON (1963) für das Zustandekommen des portalen Hochdrucks ohne Bedeutung zu sein. SHALDON et al. (1961, 1962) fanden als einzige erhöhte Catecholaminspiegel im portalvenösen Blut bei Menschen mit portaler Hypertension. MAGDALEIN et al. (1962) wiesen im Rahmen des Pfortaderhochdruckes beim Menschen auch erhöhte Serotoninkonzentrationen in der Pfortader nach. Zum gleichen Ergebnis kam MAPPES (1965) bei entsprechenden Untersuchungen an der Ratte. Er konnte bei pfortadergedrosselten Tieren in der Dünn- und Dickdarmschleimhaut einen erhöhten Serotoningehalt nachweisen. Wurden Chloralose - Urethan - narkotisierte Kaninchen mit Serotonin infundiert, kam es sowohl im arteriellen als auch im portalen Kreislauf zu Druckdepressionen. Auf Grund dieser Befunde glaubte MAPPES im Anstieg des Serotoninspiegels unter den Bedingungen der portalen Hypertension ein gegenregulatorisches Prinzip annehmen zu können. Allerdings könne der beabsichtigte Effekt wegen der anatomischen Gegebenheiten nicht zum Tragen kommen.

Beim Menschen scheint eine Beeinflußbarkeit des Portaldruckes durch Serotonin nicht gegeben zu sein. CHIANDUSSI et al. (1963) fanden weder bei Lebergesunden noch bei Patienten mit einer Lebercirrhose nach einer Serotonininfusion

Druckschwankungen in der portalen Strombahn. Befunde von BARNARDO et al. (1969) ließen es als nicht unmöglich erscheinen, daß in der portalen Strombahn eine Aktivierung des Renin - Angiotensin - Systems zu Änderungen der dortigen Druckverhältnisse beiträgt.

Aus den nun vorliegenden eigenen Untersuchungen können zwei Feststellungen abgeleitet werden:

1. Eine konstante und systematische Aktivitätsdifferenz des Plasmareninspiegels zwischen Portalblut und arteriellem Blut tritt bei Tieren mit portaler Hypertension nicht auf.

2. Im Verlauf der 21-tägigen Versuchsperiode ist generell ein Plasmarenin - Anstieg mit einem Maximum am 9. Tag zu beobachten, gefolgt von einer Phase fallender Tendenz bis zum 14. Tag, der dann eine schwächere Anstiegsphase bis zum 21. Tag folgt.

Die in unseren Versuchen gefundene Reninerhöhung in der systemischen Zirkulation mit deutlicher Tendenz zur Normalisierung verlangt eine gesonderte Besprechung:

Da alle Tiere unter den gleichen Bedingungen in Nembutalnarkose entblutet wurden, kann eine narkoseinduzierte Erhöhung des Plasmarenins, wie im methodischen Teil dargelegt, ausgeschlossen werden.

Wie von SCHUHMANN (1977) gezeigt wurde, führt die portale Hypertension bei der Ratte zu systemischen Kreislaufveränderungen, die mit einer deutlichen arteriellen Blutdrucksenkung verknüpft sind. SANDFORD et al. (1963) wiesen an Hunden nach, daß die Senkung des Druckes in der Nierenarterie einen wirksamen Stimulationsfaktor zur vermehrten Reninfreisetzung darstellt.

Es ist deshalb auch für die in unseren Versuchen auftretende Erhöhung der Plasma - Reninaktivität sehr wahrscheinlich, daß sie über die Senkung des arteriellen Mitteldruckes zustande-

kommt. Die Reninerhöhung hat somit regulativen Charakter und wirkt kompensatorisch über erhöhte Angiotensinfreisetzung dem weiteren Druckabfall entgegen.

V. ZUSAMMENFASSUNG

1. Nach einer Modifikation des radioimmunologischen Reninnachweises im menschlichen Plasma ist dieses Verfahren auch zur Bestimmung der Reninaktivität im Rattenplasma geeignet.

2. Nach Anlegen eines Ameroidquellringes um die v. portae wurde eine praehepatische Pfortaderhypertonie erzeugt, anschließend das Verhalten des portalvenösen und peripheren Renins nach 3, 6, 9, 14 und 21 Tagen im Vergleich zu scheinoperierten Tieren untersucht.

3. Eine ursächliche Beteiligung von Renin - Angiotensin an der Aufrechterhaltung der portalen Hypertension ist nach den Resultaten nicht anzunehmen. Die vorliegenden Ergebnisse liefern keinen Anhalt für die Existenz einer extrarenalen Freisetzung im Pfortaderquellgebiet, das unter den Bedingungen der portalen Hypertension aktiviert wird, da keine Konzentrationsdifferenzen zwischen v. portae und arteriellem Blut nachzuweisen waren. Die erhöhten Reninwerte in beiden Gefäßprovinzen im Gefolge der experimentellen Pfortaderdrosselung stellen vermutlich eine Antwort auf die allgemeine Druckdepression im arteriellen Kreislaufschenkel dar.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

1. BARNARDO, D.E., STRONG, C., BALDUS, W.:
L. Lab. Clin. Med. 74, 495 (1969

2. BARRETT, A.M., STOCKHAM, M.A.:
J. Endocrin. 26, 97 (1963)

3. BERMANN, J.K., FIELDS, D.C., HUBERT, J., MORI, V., PARKER, R.J.:
Surgery, 39, 399 (1956)

4. BOUCHER, R., MENARD, J., GENEST, J.:
Can. J. Physiol. Pharmacol. 45, 881 (1967)

5. BOYD, G.W., ADAMSON, A.R., FITZ, A.E., PEART, W.S.:
Lancet I, 213 (1969)

6. CHIANDUSSI, L., GRECO, F., INDOVINA, D., CESANO, L., VACARINO, A., MURATORI, F.:
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 112, 324 (1963)

7. GANTEN, D., HAYDUCK, K., BRECHT, H.M., BUCHER, R.:
Nature 226, 551 (1970)

8. HABER, E., KOERNER, T., PAGE, L.B., KLIMAN, B., PURNODE, A.:
J. Clin. Endocrin. 29, 1349 (1969)

9. HAECOX, R., HARVEY, A.M., VANDER, A.J.:
Circ. Res. 21, 149 (1967)

10. HELMER, O.M., JUDSON, W.E.:
Circulation 27, 1050 (1963)

11. HERMANSKY, F., PUDLACH, P., DIENSTER, Z.:
Rev. Belg. Path. et Med. Exp. 24, 437 (1965)

12. HORKY, K., ROJO-ORTEGA, J.M., RODRIGUEZ, J., GENEST, J.:
Am. J. Physiol. 219, 387 (1970)

13. JOHNSON, J.A., DAVIS, J.O., BAUMBER, J.S., SCHNEIDER, E.G.:
Am. J. Physiol. 220, 1677 (1971)

14. JOLY, J.G., LEDUC, J., BERNIER, J., LAVOIE, P., VIALLEET, A.:
Lancet 2, 121 (1967)

15. KLAUS, D., HEIZMANN, A.:
Z. klin. Chemie u. klin. Biochemie, 1, 1 (1968)

16. LEEVY, C.M.:
Ann. Int. Med. 49, 837 (1968)

17. LIEBOWITZ, H.:
J. Am. med. Ass. 175, 138 (1961)

18. LIEHR, H., GRÜN, M., HÖRDER, M.-H., BINDER, H., PÖSCHMANN, A.:
Z. ges. exp. Med. 155, 267 (1971)

19. LIEHR, H.:
Ber. Phys. Med. Ges. Würzburg 80, 95 (1972)

20. MAGDALEINE, M., DREUX, C., BONVARLET, A., LEGER, L.:
Presse Med. 70, 7 (1962)

21. MAPPES, G.:
Langenbecks Arch. klin. Chir. 313, 927 (1965)

22. MENARD, J., CATT, K.J.:
Endocrinology 90, 422 (1972)

23. OYAMA, T.:
Anaesth. 45, 276 (1973)

24. PICKENS, P.T., BUMPUS, F.M., LLOYD, A.M., SMEBY, R.M., PAGE, I.H.:
Circ. Res. 17, 438 (1965)

25. RÖSSLER, R., HORNEF, W., KLAUS, D., SIMSCH, A.:
Klin. Wschr. 19, 870 (1971)

26. SCHUMANN, G.:
Med. Diss., Univ. Würzburg (1977)

27. SHALDON, C., PEACOCK, J.H., WALKTER, R.M., PALMER, D., BUDRICK, F.:
Lancet 1, 957 (1961)

28. SIEGEL, J.H., HARRISON, T.S.:
Lancet 28, 1357 (1963)

29. SIEMENSEN, H.C.:
Z. ges. exp. Med. 153, 187 (1970)

30. SKINNER, S.L., Mc CUBBIN, J.W., PAGE, I.H.:
Science 141, 814 (1963)

31. SPRIGGS, T.L.B., STOCKHAM, M.A.:
J. Pharm. Pharmacol. 16, 603 (1964)

32. STEIN, M.:
Med. Diss., Univ. Würzburg (1975)

33. TAYLOR, F.W.:
Ann. Surg. 140, 652 (1954)

34. UEDA, H., YASUDA, H., TAKABATAKE, Y., MASAHIKO, I., IIZUKA, T., THORI, M., SAKAMOTO, Q.:
Circ. Res. (Suppl.) 2 (26/27), 195 (1970)

35. VANDER, A.J.:
Am. J. Physiol. 209, 659 (1965)

36. WATHEN, R.L., KINGSBURY, W.S., STOUDER, D.A., SCHNEIDER, E.G., ROSTORFER, H.H.:
Am. J. Physiol. 209, 1012 (1965)

37. WERNZE, H., SEKI, A.:
Experientia 28, 649 (1972)

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Wernze, der mir das Dissertationsthema überließ. Er war mir während der Erstellung der Arbeit ein stets verständnisvoller und einfühlsamer Berater. Ihm verdanke ich Gedanken und Impulse, die weit über den fachlichen Rahmen des bearbeiteten Themas hinausgehen.

Bei Herrn Prof. Dr. Liehr, Herrn Dr. Grün und Herrn Dr. Thiel möchte ich mich sehr herzlich für die Operationen an den Ring- und scheinoperierten Tieren bedanken.

Lebenslauf

Am 21. 12. 1947 wurde ich als erstes Kind der Schreinerseheleute Josef und Luise Iberer, geb. Hiltl, in Frankfurt/Main geboren.

Meine Jugendzeit verbrachte ich in Sulzbach - Rosenberg, wo ich ab 1954 die Volksschule und ab 1959 die Oberrealschule besuchte.

Nach dem Abitur 1968 begann ich dann mit dem Medizinstudium in Würzburg, wo ich 1969 das Vorphysikum, 1971 das Physikum und 1974 das Staatsexamen bestand.

Nach Ableistung meiner Medizinalassistentenzeit im Marienkrankenhaus in Amberg wurde mir im Januar 1976 die Approbation als Arzt erteilt.

Im Februar 1976 wurde ich als wehrpflichtiger Stabsarzt zur Bundeswehr eingezogen. Während meiner Wehrdienstzeit war ich im Luftwaffenausbildungsregiment III / Roth.

Seit Juni 1977 bin ich nun als Assistenzarzt auf der chirurgischen Abteilung des Marienkrankenhauses in Amberg tätig.

J. Iberer

Dissertationsdruck
Schmitt & Meyer

Würzburg Ludwigkai 28a Tel. 7 23 80

Dissertationsdruck
Schmitt & Meyer

Würzburg Ludwigkai 28a Tel. 7 23 80